DNA 条形码及其在植食性昆虫食性鉴定中的应用

张晓曼，张爱兵*

（首都师范大学生命科学学院，北京 100048）

摘要： 近年来 DNA 条形码的广泛应用推动了包括分类学在内的多学科的发展，促进了进化生物学及生态学的研究，受到高度关注。DNA 条形码不仅能够简单地用于物种识别，还可以用于动物食性、食物链及食物网的研究，主要通过提取粪便及肠道内容物的短片段 DNA 来得到实现。本文阐述了 DNA 条形码的研究概况及其在植食性昆虫食性鉴定中的应用，并详细介绍了用于植食性昆虫食性鉴定的 DNA 条形码的选择，最后针对鳞翅目幼虫食性相关研究予以综述。植食性鳞翅目幼虫对农林业有着严重的为害，其营养关系的研究对有害生物防治具有重要意义。

关键词： DNA 条形码；植食性昆虫；食性；营养关系；鳞翅目；幼虫

中图分类号： Q966 **文献标识码：** A **文章编号：** 0454-6296(2017)01-0104-16

DNA barcoding and its application in the identification of diets of insect herbivores

ZHANG Xiao-Man, ZHANG Ai-Bing* (College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100048, China)

Abstract: DNA barcoding has been widely used and received much attention in recent years, pushing the development of multidisciplinary researches including taxonomy, and promoting the studies of evolutionary biology and ecology. DNA barcoding is not only used in initially proposed simple species identification, but also in studies of animal diets, food chain, and food web by using short DNA fragments extracted from in feces and intestinal contents of animals. In this article, we systematically reviewed the recent advances in DNA barcoding and its application in the identification of diets of insect herbivores, and elaborated the selection of DNA barcodes in the identification of herbivore diets and the contribution in the diet composition analysis. Finally, the related research of diets of Lepidoptera larvae was reviewed. Since the herbivorous Lepidoptera larvae cause serious damages and losses to forestry and agriculture, the study of their trophic relationship has great significance for pest control and management.

Key words: DNA barcoding; herbivorous insects; diet composition; trophic relationship; Lepidoptera; larvae

DNA 条形码(DNA barcoding)是用于物种识别的一段标准的 DNA 基因片段，是区别于形态鉴定的一种能够准确快速识别物种的方法(Hebert *et al.*, 2003b)，近年来得到了广泛的关注，并逐渐向其他各个领域扩展。DNA 条形码在昆虫研究中主要被用于昆虫分类，遗传多样性(Valdez *et al.*, 2009)，亲缘关系及进化(Bucklin *et al.*, 2010)等研究，目前又有很多学者将其应用到昆虫食性分析研究中(Wong and Hanner, 2008)。为了较清楚地了解 DNA 条形码在植食性昆虫鉴定中的研究现状及与鳞翅目昆虫相关的研究，我们对 DNA 条形码的研究概况及其在植食性昆虫食性鉴定中的应用进行了综述，以期为相关领域的后续研究提供基础信息。

基金项目：国家杰出青年基金项目(31425023)；国家自然科学基金项目(31071963, 31272340)；教育部创新团队项目(IRT13081)
作者简介：张晓曼，女，1985 年 12 月生，河北石家庄人，博士研究生，研究方向为昆虫遗传进化，E-mail：zhangxiaoman456@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：zhangab2008@mail.cnu.edu.cn
收稿日期 Received：2016-06-19；接受日期 Accepted：2016-12-19

1 DNA 条形码研究概况

1.1 DNA 条形码的发展

准确地鉴定及区分物种是深入开展行为学、生态学等研究的基础和前提(Dayrat, 2005)。传统的分类主要依据生物的形态学特征、生活史及其生物学特性,不仅费时费力,对标本的保存完整性及专业水平要求较高,一定程度上还会受主观因素影响(Schindel and Miller, 2005)。

自 20 世纪 90 年代开始,研究者们开始利用分子生物学手段对物种进行区分和鉴定,尤其是对微生物多样性的研究(Woese, 1996; Zhou, 1997),但由于没有统一的标准,适用范围相对有限。随着分子生物学技术的发展,DNA 条形码应运而生,加拿大学者 Hebert 等(2003b)认为 648 bp 的线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基Ⅰ基因(*CO*Ⅰ)片段能够准确地区分物种。分类学家最初将 DNA 条形码应用于以下 3 个方面:首先是应用 DNA 条形码进行物种识别;其次,在样本破损或不完整,形态学难以鉴定情况下,DNA 条形码可以识别未知样本;最后,DNA 条形码在识别物种的同时也可以用于物种间进化关系、遗传多样性等研究。DNA 条形码具有潜在应用价值(Schindel and Miller, 2005), 生物条形码协会组织成立的生物 DNA 条形码库在 2007 年获得官方认可(DNA Barcode of Life Date, BOLD, http//www.boldsystems.org)(Ratnasingham and Hebert, 2007),自此之后科学研究者们对 DNA 条形码的研究如火如荼,研究方向涉及生态、进化、保护生物学等领域(杨帆等, 2011, 2014; Chen *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015)。

1.2 动物 DNA 条形码的研究进展

2003 年 Hebert 等对 11 个动物门的 13 320 个物种的 *CO*Ⅰ基因序列进行了分析,认为在动物界中 *CO*Ⅰ适合作为 DNA 条形码的标准基因片段(Hebert *et al.*, 2003b)。同年,Hebert 等首次将 DNA 条形码应用到了昆虫鉴定中,他们分析了 200 个亲缘关系较近的鳞翅目昆虫的 *CO*Ⅰ片段,结果表明 200 个鳞翅目昆虫均能够通过 *CO*Ⅰ片段 100% 被区分鉴定(Hebert *et al.*, 2003a)。在这些研究发表后,DNA 条形码在动物尤其是昆虫鉴定中应用急剧增多,目前 DNA 条形码数据库中超过 65% 的序列来自昆虫。Janzen 等(2005)利用 DNA 条形码 *CO*Ⅰ对数千种同域分布的鳞翅目昆虫进行分类鉴定,结果表明 97% 的鳞翅目物种能够被准确鉴定,其中包括大量的隐存种。

DNA 条形码不仅能够用于物种识别,还可以用于物种多样性评估和生态及生物地理学研究(Valdez *et al.*, 2009; Bucklin *et al.*, 2010)。DNA 条形码对物种的识别准确性高,对研究者分类水平要求低,对样本的识别不受个体发育阶段的影响,能鉴定隐存种及形态上难以鉴定的物种,同时还可以用于分析动物肠道内含物、排泄物等来揭示生物之间的食物链关系。但是 DNA 条形码也有自身的局限性,用于识别物种的 DNA 条形码需要有足够的保守性能够覆盖较广范围的物种。

1.3 植物 DNA 条形码研究概况

植物的线粒体 DNA 的进化速率远远低于动物,不能作为单一的植物通用 DNA 条形码(Fazekas *et al.*, 2008)。因此多基因植物条形码策略被提出,如叶绿体 DNA(Kress *et al.*, 2005; Lahaye *et al.*, 2008),核糖体 DNA 及其间隔区或组合片段等(Kress and Erickson, 2007; Chase *et al.*, 2007)。2009 年在墨西哥举行的第三届 DNA 条形码国际会议上,参会者进一步提出将叶绿体基因片段 *rbcl* 和 *matk* 作为植物 DNA 条形码的核心条形码,同时建议叶绿体基因间隔片段高变异率的 *trnH-psbA* 和核基因片段 *ITS* 作为植物条形码的补充。植物条形码的片段包括叶绿体的编码基因 *rbcl*, *matk*, *rpoB*, *rpoC1*, *UPA* 及非编码基因 *trnH-psbA*, *atpF-atpH*, *psbK-psbI* 和核基因 *ITS*。

其中被广泛认可的科及属一级 DNA 条形码识别序列为 *rbcl* 和 *matk*,种一级鉴别序列 *trnH-psbA*, *ITS*,但这些基因片段各有自身的实用性和局限性。叶绿体编码基因 *rbcl* 为目前认可度最高的一个基因片段,在 GenBank 中上传数据量较大,通用性强,为许多研究者所偏好,但其变异主要存在于种级以上,种级及以下由于变异较小不易区分(Fazekas *et al.*, 2008; Newmaster *et al.*, 2008)。*matk* 位于 *trnK* 基因的内含子中,长度约为 1 500 bp,相对于其他编码基因进化速率较快,在被子植物中表现出高的分辨率,也能较好地分辨一些裸子植物,但在隐花植物中有较大的应用局限性(CBOL Plant Working Group, 2009),可以作为属一级的鉴定条形码(Hollingsworth, 2008)。叶绿体间隔区 *trnH-psbA* 是进化速率最快的片段之一,大多数研究者认为此片段识别物种准确度较高(Kress and Erickson, 2007; Fazekas *et al.*, 2008),但 *trnH-psbA* 也有一定的缺陷,即有较高的突

变率和简单的序列重复和重排，不利于序列分析（Hollingsworth *et al*., 2009），导致一些单子叶植物 *trnH-psbA* 间隔区序列扩增不一致（Chase *et al*., 2007）及南洋杉属植物由于难以测序而鉴定率极低（Hollingsworth *et al*., 2009）。核基因 *ITS* 位于 18S 和 26S rDNA 之间，包括一段进化上高度保守的 5.8S rDNA 及两个基因间隔区 *ITS*1 和 *ITS*2，序列长短约为 60 ~ 700 bp（Baldwin *et al*., 1995）。Chase 等（2005）认为 *ITS*1 对植物的识别效果好于 *ITS*2，但其扩增成功率较低，又由于其种内变异率大，存在 Poly 结构测序困难等原因而降低了此片段的应用（Yamaguchi *et al*., 2006; Kress and Erickson, 2007）。虽然这些条形码仍存在一些缺陷，但仍不能阻碍研究者们将它们提名为植物潜在的 DNA 条形码。基于单一条形码鉴定范围的局限性，植物的组合条形码被推向了历史舞台，不同条形码适用于不同植物类群（表 1）。CBOL 植物工作小组对 550 种陆地植物进行条形码鉴定，发现 *rbcL* + *matK* 的组合在较大范围内能够将植物鉴定到种（CBOL Plant Working Group, 2009）。Kerss 等（2009）利用 3 种组合条形码（*trnH-psbA* + *rbcLa*, *matK* + *rbcLa*, *rbcLa* + *matK* + *trnH-psbA*）鉴定了包括木本植物、灌木和棕榈植物在内的 296 种植物，且 3 种组合的准确鉴定率均较好，其中 *rbcLa* + *matK* + *trnH-psbA* 3 条形码的组合鉴定准确率达到 98%。中国植物条形码研究团队利用不同组合条形码对1 757种种子植物进行鉴定验证，发现含有 *ITS*/*ITS*2 片段的条形码组合对种子植物的准确鉴定率及鉴定覆盖率均较高（China Plant BOL Group *et al*., 2011）。Li 等（2016）通过对单子叶植物鸢尾属 41 个分类群的 DNA 条形码的研究，认为 *rbcL* + *ITS* 和 *matK* + *ITS* 可作为鸢尾属植物鉴定的最佳组合条形码。植物条形码的确定，为植物的物种鉴定工作奠定了坚实的基础。DNA 条形码并不仅仅局限于分类学家的使用，这项技术同样可以应用在动物食性鉴定及营养关系分析的研究中（Passmore *et al*., 2006），进而推动了植食性动物食性鉴定的发展。

2 以 DNA 条形码为基础的食性鉴定研究

2.1 食性分析方法的发展

地球上生物的多样性很大程度上是物种生存进化的产物，不同物种之间捕食、寄生、植食等相互关系构成了复杂的食物网，食物网动态的研究对于整个生态学的研究有着重要的意义。最初研究者们直接观察动物的取食行为或通过显微镜（形态学的方法）观察动物的肠道内容物及粪便来确定它们的食性（Otte and Joern, 1976; Holechek *et al*., 1982），但这些方法费时费力，尤其是在动物行为学研究不易进行的情况下困难重重（Sunderland *et al*., 2005）。随之 Dove 和 Mayes（1996）通过分析植物表面的角质层蜡质自然烷烃碳链的长度进行植食性动物的食性研究，但这种方法无法分析较复杂环境下的动物食性。之后 Foley 等（1998）借助近红外光谱法（NIRS）根据存在于样本中的化学键的数量和类型（C-H, N-H 和 O-H）预测样品的成分，但这种方法主要用于动物食物中的营养成分分析，如氮、水分、纤维素等，同样也有很多局限性，如颗粒的大小及均匀性等均会影响分析的结果。

随着分子生物学的发展，生态学家开始利用分子生物学的方法解决动物的食物鉴定问题，为食性分析提供了一个新的思路。Asahida 等（1997）首次利用 DNA 分子的方法从捕食性动物石鲽鱼 *Kareius bicoloratus* 胃提取物中检测到沙虾 *Crangon affinis*。后续的研究进一步证明了这种方法的可靠与实用性（Passmore *et al*., 2006; Read *et al*., 2006; Meekan *et al*., 2009）。自 Höss 等（1992）利用 PCR 的方法分析动物粪便的论文在《Nature》上发表之后，叶绿体 *rbcl* 基因片段便开始作为植食性动物食性分析的通用分子标记。之后研究者们在黑白疣猴 *Colobus guereza*、大猩猩 *Gorilla gorilla*、棕熊 *Ursus arctos* 和长尾旱獭 *Marmota caudate* 等动物中相继开展了基于粪便的食性研究（Bradley *et al*., 2007; Valentini *et al*., 2009a），均从已降解的食物 DNA 中获得了可用于鉴定植物的条形码片段 *rbcl*, *ITS*-2 和 *trnL*。DNA 条形码在植食性昆虫食性研究中的应用，最早见于灶蟋 *Gryllodes hebraeus* 的研究，结果表明摄食后 12 h 内灶蟋肠道中的食物均可被检测到，并肯定了这种方法用于植食性昆虫食性鉴定的可靠性（Matheson *et al*., 2008）。

早期以 DNA 为基础用于食性多样性分析的方法主要通过利用通用引物或特异性引物对动物肠道内容物或粪便 DNA 进行扩增来得到实现（Deagle *et al*., 2005; Harper *et al*., 2005, 2006; Passmore *et al*., 2006; King *et al*., 2010a, 2010b）。一代测序技术局限性大，扩增有明显的偏好性，且对于杂食性物种食性分析较为困难。二代测序（NGS）技术的出现为测序分析带来了新的革命（Shendure and Ji,

表 1　植物 DNA 条形码

Table 1　DNA barcodes of plants

分子标记 Molecular marker		植物类群 Floristics	最适条形码 Optimal barcodes	引物序列(5′－3′) Primer sequence	扩增片段长度(bp) Amplified fragment length	参考文献 References
叶绿体基因 Chloroplast gene	核基因 Nuclear gene					
*trnK-rps*16, *tmH-psbA*, *rp*136-*rps*8, *atpB-rbcL*, *ycf*6-*psbM*, *tmv-atpE*, *tmC-ycf*6, *psbM-trnD*, *trnL-F*, *rbcL*	*ITS*	开花植物(53 科, 80 属, 99 种) Flowering plants (50 families, 80 genera, 99 species)	*ITS* + *tmH-psbA*	ITS5a：CCTTATCATTTAGAGGAAGGAG ITS4：TCCTCCGCTTATTGATATGC psbA3′f：GTTATGCATGAACGTAATGCTC trnHf：CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	622/628 412/453	Kress *et al*., 2005
RpoB, *rpoC*1, *rbcL*, *matK*, *psbK-psbl*, *atpF-atpH*, *trnH-psbA*		陆地植物(550 种) Land plants (550 species)	*rbcL* + *matK*	1F：ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC 724R：TCGCATGTACCTGCAGTAGC 390F：CGATCTATTCATTCAATATTTC 1326R：TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT	604 789	CBOL Plant Working Group, 2009
trnH-psbA + *rbcLa*, *matK* + *rbcLa*, *rbcLa* + *matK* + *trnH-psbA*		木本植物、灌木和棕榈植物(296 种) Woody trees, shrubs and palms (290 species)	*rbcLa* + *matK** + *trnH-psbA*	rbcLSI_For：ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC rbcLSI_Rev：GTAAAATCAAGTCCACCRCG psbA3′f：GTTATGCATGAACGTAATGCTC trnH：CGCGCATGGTGGATTCACAATCC	554 450	Kress *et al*., 2009
matK, *trnH-psbA*, *rbcL*	*ITS*/*ITS*2	种子植物(75 科, 141 属, 1 757 种) Seed plants (75 families, 141 genera, 1 757 species)	*ITS*/*ITS*2	多个引物 More primers		China Plant BOL Group *et al*., 2011

*matK**：KIM 3F：CGTACAGTACTTTTGTGTTTACGAG；KIM 1R：ACCCAGTCCATCTGGAAATCTTGGTTC；1329：TCTAGCACACGAAAGTCGAAGT；320：CGATCTATTCATTCAATATTTC；5R：GTTCTAGCACAAGAAAGTCG；XF：TAATTTACGATCAATTCATTC.

2008),可以同时对上百个混合样本进行扩增。随着 NGS 技术的迅速推广及成本降低,生态学家很快将这种新技术应用在了包括食性分析在内的生态学研究上(Valentini *et al*., 2009b),与此同时,动植物 DNA 条形码的数据库迅速扩增,NGS 技术的发展解决了杂食性物种取食食物难以同时扩增的问题。NGS 技术最初采用的是 Roche/454 的焦磷酸测序,但由于成本相对较高,测序容量低等问题,被 Illumina/Solexa 测序技术取代,目前,Illumina/Solexa 也是最适用于 NGS 食性评估的技术(Pompanon *et al*., 2012)。研究者最早将 NGS 方法用于食性评估的研究对象为捕食性动物澳大利亚海狗 *Arctocephalus pusillus doriferus*(Deagle *et al*., 2009)、小蓝企鹅 *Eudyptula minor*(Deagle *et al*., 2010)等,植食性动物鸟类、昆虫和哺乳动物等(Soininen *et al*., 2009; Valentini *et al*., 2009a)。迄今为止,DNA 条形码用于昆虫食性的研究主要集中在鞘翅目(Jurado-Rivera *et al*., 2009; Pinźon-Navarro *et al*., 2010; Kaartinen *et al*., 2010; Robledo *et al*., 2013; Kitson *et al*., 2013; Kajtoch *et al*., 2015)和直翅目(Ibanez *et al*., 2013; Avanesyan, 2014)。

2.2 食性分析一般流程

利用 DNA 条形码分析动物食性主要包括以下流程:1)标本的采集、形态鉴定及描述;2)肠道内容物及排泄物的收集;3)基因组 DNA 的提取;4)基因片段的扩增〔用于高通量测序混合样品的基因片段主要由目的片段、引物、标签(tag)、接头(adapter)和特异的标签(unique index)构成,不同文库构建方法不同,依不同实验而定〕;5)测序后对数据进行拼接、修整与相关数据库比对分析(Kajtoch *et al*., 2015)。目前利用 DNA 条形码解读动物的食性已不再陌生,主要利用动物的排泄物及其肠道内容物进行 DNA 片段的提取及扩增。由于被取食食物已被消化,DNA 碎片已部分降解,对基因组 DNA 的提取要求较高,DNA 条形码片段选取上也需慎重。Gamba 等(2016)比对了关于提取已部分降解的古代人类骨骼样本 DNA 的 3 种方法,其中 column-based silica DNA 纯化的方法,能够提取片段 <80 bp 的极短 DNA 片段,为最有效的提取部分降解 DNA 的方法。对植物而言,由于杂质含量较多如多糖、单宁等,在提取基因组 DNA 之前通常需添加抗氧化保护剂用于降低醌类及多酚氧化酶等对 DNA 的影响(Clarke *et al*., 2009),另外植物在动物体内的消化较快,所以对植食性物种的食性鉴定困难重重。尽管如此,仍有很多研究者成功提取了植食性动物肠道或粪便的食物基因组 DNA。主要利用的基因组 DNA 提取试剂盒为 QIAGEN(Hilden, Germany)Tool Kit(Bradley *et al*., 2007; Valentini *et al*., 2009b), Sherlock AX Kit (A&A Biotechnology)(Kajtoch *et al*., 2015)等。DNA 条形码用于食性分析不仅需关注 DNA 提取的问题,条形码的选择也尤为关键(Pompanon *et al*., 2012)。

2.3 用于食性分析的 DNA 条形码选择

条形码及引物的选择是测序可靠性分析的重要保障,理论上用于动物鉴定公认的条形码 *CO* Ⅰ(648 bp)序列的组合方式为 4^{648} 种,完全可以鉴定现存的上千万种的物种(Hebert *et al*., 2003b)。但现实中远比简单基因组合方式复杂得多,例如,植物与动物线粒体进化速率的不同,基因的突变、渗入及其在不同的物种间保守性不同等等。覆盖范围较广的条形码,保守性较高,但往往分辨率低,而变异性高、分辨率高的条形码鉴定覆盖率却较低(Pompanon *et al*., 2012)。Moszczynska 等(2009)提出了分级条形码(hierarchical barcoding),也就是组合条形码,由覆盖率较高的条形码和分辨率较高的条形码共同组合,能够更全面地将动物食性鉴定到种。例如对于植食性动物的食性鉴定通常采用 *racL*(科,属)+ *trnL*(种)的组合方式(Robledo *et al*., 2013; Kajtoch *et al*., 2015),不仅补充了单一条形码鉴定困难的问题,也同时为鉴定复杂的食物样本提供了条件。

条形码选择的另一个关键因素是基因片段的扩增效率,PCR 产生的序列间接反映动物的食物样本,被取食的食物样本的 DNA 已部分降解,条形码的选择区域长度一般应为 100 ~ 250 bp,这就不可避免地降低了分类的分辨率(Pompanon *et al*., 2012),而能够成功鉴定物种的合适的条形码的长度应为 500 ~ 700 bp(Folmer *et al*., 1994; Juen and Traugott, 2005)。所以在被取食的食物中选择的条形码的长度在不同物种中需存在较小的变化,以防止优先考虑的长片段在 PCR 过程中丢失(Pompanon *et al*., 2005)或由于长短条形码在已被降解样本中的拷贝数不同而造成偏好性扩增(Deagle *et al*., 2006)。对于 DNA 条形码的选择原则理论上应在细胞中有多个拷贝,如线粒体及叶绿体中的条形码,以保证扩增已降解 DNA 的效率。

相关数据库覆盖的范围及数据的质量同样是条形码选择的重要依据。与 DNA 条形码主要相关的

数据库有 BOLDsystems，IBOL（http://www.barcodeoflife.org/），GenBank，EMBL 和 DDBJ 等。当条形码数据库不足以满足食物的鉴定时，可以建立一个自定义的本地数据库（Deagle *et al.*，2010），以提高后期数据分析比对的准确率与可靠性。如 Soininen 等（2009）在进行近北极的根田鼠 *Microtus oeconomus* 和棕背䶄*Myodes rufocanus* 食性研究时，首先建立了 842 种的北极植物物种数据库，增加了后期比对分析的成功率。

自 trnL P6 环由 Taberlet 等（2007）提出可以鉴定高度降解的 DNA 后，条形码内含子 *trnL*（UAA）在植食性动物食性研究中取得了较大的成功（Valentini *et al.*，2009a）。例如对于食根性昆虫的食性，我们了解甚少，Staudacher 等（2011）首次利用 *rbcL* 和 *trnL* 条形码成功鉴定了喂食植物根部的细胸金针虫 *Agriotes subrittatus* 幼虫的食性，认为 DNA 条形码能够推进我们对土壤中生活取食植物根部的昆虫的食性研究。Robledo 等（2013）利用 3 种条形码（*rbcL*，*trnH-psbA* 和 *ITS2*）研究了卷叶甲的食性，发现 *rbcL* 和 *ITS2* 更适合卷叶甲的食物鉴定，并重建了昆虫与植物之间的食物网。Kajtoch 等（2015）利用条形码 *rbcL* 和 *trnL*（c，d）解析了对欧洲中心区域植物群落造成严重威胁的卷叶甲（55 种）和象鼻虫（59 种）的食性，发现了它们和植物的 224 个食物网络连接，其结果与之前观察记录的食性相符，肯定了条形码用于食性鉴定的可靠性。DNA 条形码在动物食性鉴定中的广泛应用，扩展了我们对世界上数量庞大的昆虫及其食物链的进一步认识，近几年主要用于植食性动物食性分析的条形码和引物见表 2。

表 2　用于植食性动物食性分析的条形码

Table 2　DNA barcodes for diet analysis of herbivorous animals

DNA 条形码 DNA barcodes	引物序列（5′-3′） Primer sequence	植物类群 Floristics	扩增片段长度（bp） Amplified fragment length	参考文献 References
trnL	g：GGGCAATCCTGAGCCAA h：CCATTGAGTCTCTGCACCTATC	-	25 - 85	Valentini *et al.*，2009a
rbcL	Z1aF：ATGTCACCACCAACAGAGACTAAAGC 19bR：CTTCTTCAGGTGGAACTCCAG	-	157	Hofreiter *et al.*，2000
trnH- psbA	psbAF：GTTATGCATGAACGTAATGCTC trnHR-2：CGCGCATGGTGGATTCACAAT	苔藓 Mosses	~300	Stech *et al.*，2010
rbcL	rbcL _F：ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC rbcLa-230-Rev：CTTACCAGYCTTGATCGTTACAAAGG rbcL260-F：ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC rbcLa_Rev：GTAAAATCAAGTCCACCRCG	姜目 Zingiberales	230 230	Robledo *et al.*，2013
ITS2	ITS2-2For：ATGCGATACTTGGTGTGAAT ITS3-Rev：ATTGTAGTCTGGAGAAGCGTC		159	
rbcL	rbcL-F1：ATGTCACCACAAACAGAAAC rbcL-724R：TCGCATGTACCTGCAGTAGC	草原草本植物 Steppic grasses	650 - 680	Kajtoch *et al.*，2015
trnL	A49325（c）：CGAAATCGGTAGACGCTACG B49863（d）：GGGGATAGAGGGACTTGAAC		350 - 640	
trnL-P6 **	g：GGGCAATCCTGAGCCAA h：CCATTGAGTCTCTGCACCTATC	草本植物 Grasses		Kartzinel *et al.*，2015
ITS **	ITS-A：GGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG ITS-C：GCAATTCACACCAAGTATCGC ITS1-F：GATATCCGTTGCCGAGAGTC ITS1Ast-R：CGGCACGGCATGTGCCAAGG ITS1Cyp-R：GGATGACGCCAAGGAACAC ITS1Poa-R：CCGAAGGCGTCAAGGAACAC			

** 这篇文献中用到的主要条形码 The main barcodes used in this literature.

2.4　数据分析

目前用于食性分析的二代测序方法，同时可以对多重 PCR 扩增的大量产物进行测序，前期的数据分析主要包括去除错误的读取序列、分选序列、聚类分析。但在 PCR 过程中与引物连接的标签跳跃（tag jumps）容易导致所测序列与样品的错误匹配（Schnell *et al.*，2015）。测序结果出现的一些错误序列可以通过设定阈值去除低质量值数据和冗余序列。但对于食性研究而言，这样的处理有可能会去除一些少量稀有的食物，为了避免这样的错误，可以

通过检验嵌合体去除序列数据中的“噪音”(Quince *et al*., 2011)。后期分析主要包括选择重复率较高的序列、序列对比鉴定、计算推断合适的进化树及对进化树进行评估。

准确的 DNA 序列数据的获得是对数据进行分析构建系统发育树的前提,所以实验样品应尽量避免捕食者的污染,合理选择条形码及避免 PCR 过程中的偏好性扩增。例如在实验过程中应严格按照实验步骤操作,避免不必要污染,DNA 提取及 PCR 等每一步实验均需设置对照组(Ficetola *et al*., 2016)。如果采用二代测序的方法,PCR 过程中文库的构建尤为重要。物种的识别方法可选用 Barcoding R 包(Zhang *et al*., 2016)进行分析,该函数包综合了多种物种识别算法(需要本地数据库),准确率高,同时也提供了一些实用函数,如条形码评估、barcoding gap 分析和物种成员分析等等。另外,数据分析中构建系统发育树的算法主要基于最小进化原理距离法及基于离散特征最大似然法、最大简约法和贝叶斯法等(Yang and Rannala, 2012)。秦洁和张爱兵(2013)对这几种方法进行了总结,金倩和张爱兵(2013)针对距离分析法做了详细介绍。食性多样性的评估可利用生态演化支(ecological clades),或者分子分类单元(molecular operational taxonomic units, MOTUs)对食性进行多样性评估(Corse *et al*., 2010; Bohmann *et al*., 2011)。取样充分性及食物的丰富度可采用软件 EstimateS9.1(Colwell, 2013)进行评估。数据集的对齐可利用 MAFFT V.7 软件(Katoh and Standley, 2013),系统进化树最适模型评估软件可采用 MRMODELTEST 2.3(Nylander, 2004)与 PAUP*(Swofford, 2002)的连用来实现,系统进化树的重建可采用 PHYML 3.0 软件(Guindon *et al*., 2010)。FIGTREE v1.3.1(Rambaut, 2009)用来可视化和编辑直观的系统发育树。动物及其食物构成的食物网的分析可利用 *bipartite*(Dorman *et al*., 2008)在 R(R Core Development Team, 2013)中运行来实现,进而解释生态系统中物种间的食物网关系。

3 鳞翅目幼虫与植物的关系

鳞翅目幼虫的研究相对于成虫较少。最早的鳞翅目幼虫的化石是在加拿大的琥珀中发现的白垩纪双孔次亚目幼虫的头壳(MacKay, 1970)。多数第三纪鳞翅目的化石与现有类群差异较小(Common, 1975)。Opler(1973)认为第三纪中新世潜叶蛾类的树叶化石与北美洲现存的树木相似性很大,在现存类群中亲缘关系较近的潜叶类的鳞翅目昆虫与被子植物的关系从第三纪中期以来一直延续至今。最初比较系统的幼虫相关研究是英国学者 Hinton (1943)对鳞翅目幼虫刚毛的同源性和命名进行了讨论;中国学者朱弘復描述了北京天蛾科幼虫及蛹的分类(朱弘復和刘友樵, 1951);日本的一色周知 Issiki(1977)编著了原色日本蛾类幼虫图鉴。Powell (1980)总结了小鳞翅类昆虫幼虫的食性偏好进化,系统地概括了所有小鳞翅类昆虫各个科的食性,及地球上多个地区小鳞翅类昆虫的发生和较全面的食性相关的文献总结。20 世纪 70 年代起,研究者们除了对鳞翅目幼虫单纯的种类鉴定之外,还相继开展了生物学、生理学、环境和生物之间的关系以及害虫防治的广泛研究(Mayer, 1973; Szentesi *et al*., 1977; Robert and Benrey, 1997; Hirota and Obara, 2000),如 20 世纪 70 年代末至 80 年代初,中国学者编著了《中国经济昆虫志》,描述了包括鳞翅目大部分科在内的幼虫的生物学特性。对鳞翅目幼虫的食性研究还包括少量的野外调查(张立, 1995; 刘淑荣, 2011),及鳞翅目寄生性天敌的食物网研究,如 Kaartinen 等(2010)首次利用条形码 *CO* Ⅰ 及 *ITS*2 鉴定了包括 7 个科在内的鳞翅目寄生性天敌的食物网关系。Smith 等(2011)利用不同的 DNA 条形码解析了云杉色卷蛾 *Choristoneura fumiferana* 寄生性天敌食物网的相互关系,但并没有基于 DNA 条形码的鳞翅目幼虫食性相关研究。由于鳞翅目幼虫形态相似度高且不易采集,对其幼虫的研究相对于成虫较少,而大部分鳞翅目昆虫为植食性,其幼虫阶段对农林业造成严重危害,所以对鳞翅目幼虫食物网的研究尤为重要。DNA 条形码在鞘翅目及直翅目昆虫中的成功运用将为其在鳞翅目昆虫中应用提供借鉴(Pinźon-Navarro *et al*., 2010; Ibanez *et al*., 2013; Avanesyan, 2014; Kajtoch *et al*., 2015)。

3.1 幼虫与成虫的关联桥梁——DNA 条形码

鳞翅目昆虫条形码计划(http://www.lebarcoding.org)为专门的鳞翅目条形码鉴定库。利用 DNA 条形码对鳞翅目成虫分类鉴定并不少见(Hajibabaei *et al*., 2006; 宋韶彬等, 2014a),主要通过对鳞翅目成虫腿部组织提取 DNA 进行鉴定。如 Yang 等(2014)利用 *CO* Ⅰ 基因对成虫夜蛾总科的 38 个种进行鉴定,认为与薄膜基因芯片的鉴定方法同样快速有效;杨聪慧等(2012)以成虫为对象利用 DNA 条形码 *CO* Ⅰ 对北京百花山夜蛾科昆虫进行了

物种鉴定；迟美妍等（2012）评估了不同进化模型对雾灵山夜蛾成虫 DNA 条形码分类的影响；Qin 等（2015）利用线粒体基因组分析了亲缘关系较近的 3 种松毛虫 *Dendrolimus*［枯叶蛾科（Lasiocampidae）］的线粒体种系基因组和遗传关系；Hulcr 等（2007）根据已记录的寄主植物及 *CO* Ⅰ基因单倍型的多样性，利用 DNA 条形码技术揭示了取食不同寄主植物的新几内亚和澳大利亚长卷蛾 *Homona mermerodes* 物种的遗传变异远远低于长卷蛾属的其他物种。而对鳞翅目幼虫的研究多集中在幼虫的形态鉴定及分类上，分子鉴定较少。由于幼虫形态相似度较高，所以昆虫的形态鉴定一般以成虫为研究对象，对幼虫的形态分类鉴定一直是一个难题。DNA 条形码推进了幼虫鉴定领域的发展（Ekrem *et al*., 2007）。DNA 条形码在物种鉴定中不局限于虫态，可以鉴定形态差异较大的虫态。如 Caterino 和 Tishechkin（2006）利用线粒体基因 *CO* Ⅰ和核基因 18S rDNA 鉴定了鞘翅目阎甲科伴阎甲亚科的幼虫。岳巧云等（2011）通过 *CO* Ⅰ鉴定出了未知昆虫的幼虫为玉米象 *Sitophilus zeamais*，认为运用 DNA 条形码技术能准确地进行昆虫幼虫种类的鉴定。可见在有相应数据库的情况下，DNA 条形码能够将幼虫及成虫联系起来，达到幼虫鉴定的目的。

3.2　鳞翅目幼虫的食性相关研究

幼虫是鳞翅目昆虫取食和危害的时期，其寄主广泛，大多数以植物为食，取食不同植物或同一种植物的不同部位，作为农林业害虫，鳞翅目昆虫造成灾害的例子不胜枚举。20 世纪 80 年代天蛾科（Sphingidae）和天蚕蛾科（Saturniidae）在美洲大陆许多地方同时发生，寄主植物多达几百种（Janzen，1984）。危害甘薯的鳞翅目昆虫包括甘薯天蛾 *Herse convolvuli* 幼虫、八点灰灯蛾 *Creatonotus transiens* 幼虫、尖白灯蛾 *Slilarctia obliqua* 幼虫、银纹夜蛾 *Plusia agnate* 幼虫、甘薯麦蛾 *Brachmia trianuella* 幼虫、烦夜蛾 *Anophia leucomelas* 幼虫、甘薯卷叶螟 *Dichocrocis diminutive* 幼虫、卷绮夜蛾 *Cretonia vegeta* 幼虫和斜纹夜蛾 *Prodenia litura* 幼虫等（吴珍泉，1983）。胡淼等（1999）调查了江苏各地危害黑莓的鳞翅目幼虫，包括食叶、蛀果、蛀干幼虫，共鉴定出 14 科 51 种，并对不同蛾类造成的危害进行了描述，严重影响黑莓产量。吴寿德等（2002）报道福建省云霄漳江口红树林自然保护区暴发的广州小斑螟 *Oligochroa cantonella* 取食白骨壤叶片，对白骨壤造成严重危害。丁珌等（2004）报道毛颚小卷蛾 *Lasiognatha cellifera* 在福建一些地区发生严重，造成红树林长势衰弱。世界性害虫松毛虫幼虫 *Dendrolimus*，主要危害松、柏、杉等森林树种（候陶谦，1987；宋韶彬等，2014b）。天蛾为害多种植物，是农林业的主要害虫之一。除此之外也不乏鳞翅目入侵种的危害，如美国白蛾 *Hyphantria cunea*，危害的植物达几百种（张彦龙等，2008）。铃夜蛾属有包括棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 等在内的 5 种主要的害虫，取食寄主植物的果实、花朵、种子、叶片等（Cho *et al*., 2008），其中棉铃虫的幼虫寄主植物多达 87 种，隶属于 48 科（Zalucki *et al*., 1994）。对鳞翅目幼虫所取食寄主植物的了解能够使我们更好地对其进行防控。但幼虫形态不易区分，大多数研究者采用将幼虫饲养至成虫再进行鉴定，费时费力。在自然界中直接观察昆虫取食行为有一定难度，分子生物学的发展能够克服昆虫鉴定及食性鉴定的困难，已成功应用于许多昆虫食性鉴定中（Ibanez *et al*., 2013；Kajtoch *et al*., 2015）。

基于 DNA 条形码的鳞翅目幼虫食性研究鲜有报道，其幼虫食性主要是通过野外调查或室内饲养获得。Powell（1980）利用室内饲养的方法，通过 20 年的时间获得了加利福尼亚及其邻近州约 650 种小鳞翅类的寄主植物，并归纳总结了不同地区小鳞翅类寄主植物的研究现状。Fitt（1989）总结了实夜蛾属与被子植物的关系。Thompson 和 Pellmyr（1991）对鳞翅目产卵行为及寄主选择偏好性进行了综述。Mitter 等（1993）综述了实夜蛾亚科（Heliothinae）的分类地位并总结了已记载的寄主植物。张立（1995）通过对北京地区天蛾的调查，发现北京各区共有天蛾科昆虫 24 属 38 种，其寄主植物隶属于 27 科。Cho 等（2008）明确了实夜蛾亚科的分子系统并分析了寄主范围与害虫分类地位的进化关系。陶万强等（2009）通过对北京松山国家自然保护区鳞翅目昆虫的调查及文献查阅，对鳞翅目幼虫的食性进行了归总。武春生（2010）对中国刺蛾科幼虫的寄主植物进行统计，记录了我国 89 种刺蛾幼虫的寄主植物，隶属于 64 科。刘淑蓉（2011）调查了八仙山鳞翅目幼虫的多样性及食性，采集了蛾类幼虫 25 科 120 种，其寄主植物共统计了 48 种，隶属于 31 科 44 属，并认为在植物生长繁盛的 8 月份鳞翅目幼虫种类和数量达到高峰期。以上对鳞翅目昆虫的食性研究均基于调查，室内饲养或直接延用前人的记录。表 3 列出了部分鳞翅目幼虫的部分寄主植物，这些调查研究可为基于 DNA 条形码的食性研究提供参考。

表 3 部分鳞翅目幼虫寄主植物

Table 3 Host plants of larvae of some lepidopterans

科名 Family	寄主植物 Host plants[a]	参考文献 References
蓑蛾科 Psychidae	洋槐 *Robinia pseudoacacia*,国槐 *Sophora japonica*,栎属 *Quercus*,地衣 Psychidae,豆科 Fabaceae,禾本科 Poaceae	Powell, 1980;陶万强等, 2009
微蛾科 Nepticulidae	蔷薇科 Rosaceae,壳斗科 Fagaceae,桦木科 Betulaceae	Powell, 1980
细蛾科 Gracillariidae	壳斗目 Fagales,杨柳科 Salicacese,蔷薇科 Rosaceae,豆科 Leguminosae	Powell, 1980
麦蛾科 Gelechiidae	豆科 Leguminosae,菊科 Asteraceae,壳斗科 Fagaceae,杨柳科 Salicacese	Powell, 1980
潜蛾科 Lyonetiidae	国槐 *Sophora japonica*,蔷薇科 Rosaceae,菊科 Asteraceae,豆科 Leguminosae	Powell, 1980
透翅蛾科 Sesiidae	大戟科 Euphorbiaceae, 葫芦科 Cucurbitaceae, 蓼科 Polygonaceae, 蔷薇科 Rosaceae,杨柳科 Salicacese	Powell, 1980
举肢蛾科 Heliodinidae	胡桃科 Juglandaceae,紫茉莉科 Nyctaginaceae	Powell,1980; 陶万强等, 2009
巢蛾科 Yponomeutidae	松科 Pinaceae,壳斗科 Fagaceae,蔷薇科 Rosaceae,卫矛科 Celastraceae	Powell, 1980
蛀果蛾科 Carposinidae	桃金娘科 Myrtaceae,桔梗科 Campanulaceae,松科 Pinaceae,茜草科 Rubiaceae,蔷薇科 Rosaceae	Powell, 1980; 陶万强等, 2009
木蠹蛾科 Cossidae	豆科 Leguminosae,杨柳科 Salicacese	Powell, 1980; 陶万强等, 2009
刺蛾科 Limacodidae	茶科 Theaceae,蔷薇科 Rosaceae,杨柳科 Salicacese	武春生, 2010
斑蛾科 Zygaenidae	蔷薇科 Rosaceae	陶万强等, 2009
卷蛾科 Tortricidae	松柏类 Conifers,果树 Fruit trees	刘友樵和白九维, 1977
螟蛾科 Pyralidae	松柏科 Coniferae,禾本科 Poaceae,夏枯草 *Prunella vulgaris*,核桃 *Juglans regia*,蔷薇科 Rosaceae	王平远, 1980; 陶万强等, 2009
钩蛾科 Drepanidae	林木果树 Wood fruit trees,赤杨 Alder,荚蒾 *Linden viburnum*,栎属 *Quercus*	陶万强等, 2009
尺蛾科 Geometridae	冬青科 Aquifoliaceae,杨柳科 Salicacese,松科 Pinaceae,蔷薇科 Rosaceae,杜鹃花科 Ericaceae,忍冬科 Caprifoliaceae	薛大勇和朱弘复, 1999
枯叶蛾科 Lasiocampidae	松科 Pinaceae,柏科 Cupressaceae,禾本科 Poaceae,壳斗科 Fagaceae,杨柳科 Salicacese,蔷薇科 Rosaceae,大戟科 Euphorbiaceae,桦木科 Betulaceae	刘友樵和武春生, 2006
蚕蛾科 Bombycidae	桑 Mulberry	陶万强等, 2009
天蚕蛾科 Saturniida	木棉科 Bombacaceae, 豆科 Leguminosae, 紫葳科 Bignonizceae, 大风子科 Flacourtiaceae,无患子科 Sapindaceae	Janzen, 1984
大蚕蛾科 Staurniidae	银杏 *Ginkgo biloba*,核桃 Juglans,蔷薇科 Rosaceae,古北种占优势 Palaearctic species as the dominant species	陶万强等, 2009
箩纹蛾科 Brahmaeidae	木樨科 Oleaceae	陶万强等, 2009
天蛾科 Sphingidae	葡萄科 Vitaceae,凤仙花科 Balsaminaceae,大戟科 Euphorbiaceae,柳叶菜科 Onagraceae,木樨科 Oleaceae,胡桃科 Juglandaceae,杨柳科 Salicacese,桦木科 Betulaceae,茜草科 Rubiaceae,豆科 Leguminosae,蔷薇科 Rosaceae	朱弘复和王琳瑶, 1980; Janzen, 1984; 张立, 1995
舟蛾科 Notodontiae	杨柳科 Salicacese,壳斗科 Fagales,禾本科 Poaceae,豆科 Leguminosae,桦木科 Betulaceae,榆科 Ulmaceae,胡桃科 Juglandaceae	蔡荣权, 1979
灯蛾科 Arctiidae	蒲公英 *Taraxacum mongolicum*, 桑 Mulberry, 芸香科 Rutaceae, 野苜蓿 *Medicago sativa*	方承莱, 1985; 陶万强等, 2009
夜蛾科 Noctuidae	禾本科 Poaceae,矮小植物 Dwarf plants, 取食范围较广 Wide feeding range	朱弘复和陈一心, 1963
毒蛾科 Lymantridae	山榄科 Sapotaceae, 大戟科 Euphorbiaceae, 豆科 Leguminosae, 木棉科 Bombacaceae,桃金娘科 Mytaceae,壳斗科 Fagaceae,蔷薇科 Rosaceae,松科 Pinaceae,柏科 Cupressaceae,禾本科 Poaceae	赵仲苓, 1978

[a] 由于表格空间限制,寄主植物没有全部列出,详细请参考原文。Because of limited space of the table, not all the host plants are listed. Details see the cited references.

3.3 鳞翅目昆虫与植物的协同进化

协同进化一词最早是由 Ehrlich 和 Raven (1964)在文章中讨论植物及植食性昆虫(蝴蝶)之间的相互进化关系及影响时提出的。植食性昆虫对寄主植物的选择受到化感物质、植物挥发物、植物形态、天敌和取食模式等的影响。对鳞翅目寄主选择的研究表明,任何一种单一因素都无法解释寄主特异性的进化,蝴蝶对寄主植物的选择主要与植物挥发物相关,例如,粉蝶属 *Pieris* 取食十字花科(Crucifers)植物,豆粉蝶属 *Colias* 主要取食豆类植物(legumes),凤蝶 *Papilio machaon* 取食伞形科(Apiaceae)(Thompson and Pellmyr, 1991)。也有一些研究表明,寄主转移并不一定与特定的植物挥发物有关(Smiley, 1985)。Ng(1988)的研究表明,一

些蛱蝶科堇蛱蝶属的 *Euphydryas editha* 将卵专一性的产在玄参科马先蒿属的 *Pedicularis semibarbata* 上，与非专一将卵产在 *P. semibarbata* 上的 *E. editha* 相比，提高了后代的存活率。Janzen（1984, 1987）记录圣罗莎国家公园中天蛾取食 16 个科的植物，被天蛾取食的寄主植物通常被认为均包含“有毒的小分子”，作者认为可能是肠道中的某些细菌参与了解毒过程，它们的这种取食行为减少了与其他昆虫的食性竞争。对小鳞翅目的研究也表明大量的同一科的蛾类将寄主转移到了不同科的植物中，如丝兰蛾科（Prodoxidae）中，属于同一属的丝兰蛾类（yucca moths）将卵分别产在蔷薇科（Rosaceae）、伞形科（Umbelliferae）、虎耳草科（Saxifragaceae）、龙舌兰科（Agavaceae）和桃金娘科（Myrtaceae）植物上，这些科隶属于 5 个不同目的被子植物（Thompson and Pellmyr, 1991）。

植食性昆虫与植物及环境的适应进化不仅表现在行为上的改变，也包括内在取食机制的协同进化，其中包括昆虫对植物次生代谢物解毒功能的适应。例如，防风草织叶蛾 *Depressaria pastinacella* 仅取食伞形科的 3 个属，为专食性昆虫，而此属均含有呋喃香豆素，是一种对昆虫有毒的物质，但对防风草织叶蛾却无影响，原因是这种叶蛾体内含有对此物质有解毒作用的高活性多底物单氧化酶（PSMOs）（Nitao, 1989）。舞毒蛾 *Lymantria dispar* 利用羟基还原酶可以对核桃酮解毒（Lindroth *et al*., 1990）。苦杏仁苷能够阻碍桃小透翅蛾 *Synanthedon pictipes* 的生长，却对桃树透翅蛾 *S. exitiase* 生长无阻碍作用，作者发现桃树透翅蛾 B-葡糖苷酶的活性是桃小透翅蛾的 9 倍（Reilly *et al*., 1987）。Zagrobelny 等（2009）通过对六星灯蛾 *Zygaena filipendulae* 幼虫转录组的解析，确定了氰糖苷合成酶的代谢通路，明确了其破坏寄主植物百脉根 *Lotus corniculatus* 细胞壁的机理。由于一些鳞翅目幼虫对农林业造成了严重的危害，一直以来都是研究者们极为关心的对象，如世界性害虫棉铃虫 *H. armigera*、小菜蛾 *Plutella xylostella*、菜青虫 *Pieris rapae* 等，对其生物学及机理研究也一直都是热点。转录组测序技术推进了鳞翅目昆虫生理生化及毒理的研究，如 Celorio-Mancera 等（2011）研究了棉铃虫幼虫转录基因对不同棉花次生代谢物的应答反应。喂食不同的寄主植物的棉铃虫，其肠道转录组 P450 基因的表达量不同（Celorio-Mancera *et al*., 2012）。昆虫的多样性及成功的进化同时离不开数量庞大的微生物，昆虫的肠道菌群可为宿主提供许多益处（Engel and Moran, 2013）。例如，为昆虫提供营养（Fukatsu and Hosokawa, 2002），降解植物次生物质毒性（Kikuchi *et al*., 2012），提高昆虫免疫力等（Broderick and Lemaitre, 2012）。Ping 等（2007）从甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 肠道细菌中纯化的 N-酰基氨基酸水解酶有催化水解和合成 N-酰基氨基酸的作用。烟草天蛾 *Manduca sexta* 肠道中的肠球菌 *Enterococcus faecalis* 转移至其血腔后对烟草天蛾有致死作用（Mason *et al*., 2011）。昆虫取食不同的食物会影响其肠道的菌群（Colman *et al*., 2012）。Tomás 等（2011）研究表明喂食不同食物的天蚕蛾科幼虫肠道菌群有较大的差异。

昆虫与植物的相互关系，是陆地生物群落中重要的组成部分，通常根据昆虫取食寄主植物的范围，分为单食性、寡食性和多食性昆虫，取食植物的所属科包括 3 种或以上且所属目包括 2 种或以上的昆虫被认为是杂食性昆虫（Powell, 1980; Mitter *et al*., 1993）。昆虫在古生代的泥盆纪出现，而被子植物作为昆虫的主要寄主植物起源于中生代的白垩纪早期，鳞翅目昆虫最早起源于侏罗纪早期，可能在白垩纪中期到第三纪早期形成了主要的分支，化石证据证明鳞翅目主要分支的形成几乎与被子植物的辐射同时发生（Chesters *et al*., 1967）。Ehrich 和 Raven（1964）认为鳞翅目谱系的多样性可能与他们的寄主植物平行进化有关（Rentz, 1991）。Powell（1980）认为小鳞翅目的每一个总科对被子植物的取食均有高度的多样性，取食裸子植物只是一些鳞翅目昆虫类群的二次适应。鳞翅目昆虫由于早期化石记录的缺乏及现存物种多样性高成为鳞翅目进化关系研究的重要挑战。

4　展望

鳞翅目昆虫属于世界上植食性昆虫最大的类群之一（Scoble, 1992），幼虫几乎取食裸子植物和被子植物所有的目，同时也取食蕨类植物、苔类和苔藓类（Powell *et al*., 1998），早期鳞翅目昆虫食性数据的获得主要是通过室内饲养（Powell, 1980）。但分类学及动物区系的研究不仅没有包括植物的其他生物信息也没有寄主植物数据来源的记录。同时也有研究者批判性地分析了可疑的寄主植物记录（Sattler, 1967）。对寄主植物的准确认知是我们进行后续其他研究的基础，例如植物协同进化关系的

研究等。利用 DNA 条形码不仅可以一定程度上克服幼虫鉴定困难的问题,解析食物链,建立食物网络关系及进化关系,也可以辅助我们认清有害昆虫的食性,进而进行相应的机理研究和防治。对于植食性昆虫,利用 DNA 条形码的方法构建食物网仍存在一些困难。如:植物鉴定的条形码至今并没有统一;用于食性鉴定的 DNA 条形码片段普遍较短,对后期鉴定分析有一定的限制性;二代测序实验中造成的标签的跳跃及嵌合体的形成需要技术改进。今后研究中我们应致力于条形码的统一,寻找包含足够信息的较短的条形码,结合二代三代测序技术及生物信息分析技术,扩充昆虫食性的数据库,为后续食性研究提供基础数据。总之,机遇与挑战并存,DNA 条形码可以并已经被用于食性鉴定研究,进而用于建立生态系统中消费者与被消费者之间的相互关系,从而促进人们对植食性昆虫与其寄主植物关系的认识。

参考文献(References)

Asahida T, Yamashita Y, Kobayashi T, 1997. Identification of consumed stone flounder, *Kareius bicoloratus* (Basilewsky), from the stomach contents of sand shrimp, *Crangon affinis* (De Haan) using mitochondrial DNA analysis. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 217(2): 153-163.

Avanesyan A, 2014. Plant DNA detection from grasshopper guts: a step-by-step protocol, from tissue preparation to obtaining plant DNA sequences. *Appl. Plant Sci.*, 2(2): 1300082.

Baldwin BG, Sanderson MJ, Porter JM, Wojciechowski MF, Campbell CS, Donoghue MJ, 1995. The ITS region of nuclear ribosomal DNA: a valuable source of evidence on angiosperm phylogeny. *Ann. Mo. Bot. Gard.*, 82(2): 247-277.

Bohmann K, Monadjem A, Lehmkuhl Noer C, Rasmussen M, Zeale MRK, Clare E, Jones G, Willerslev E, Gilbert MTP, 2011. Molecular diet analysis of two African free-tailed bats (Molossidae) using high throughput sequencing. *PLoS ONE*, 6: e21441.

Bradley BJ, Stiller M, Doran-Sheehy DM, Harris T, Chapman CA, Vigilant L, Poinar H, 2007. Plant DNA sequences from feces: potential means for assessing diets of wild primates. *Am. J. Prima.*, 69(6): 699-705.

Broderick NA, Lemaitre B, 2012. Gut-associated microbes of *Drosophila melanogaster*. *Gut Microbes*, 3: 307-321.

Bucklin A, Hopcoft RR, Kosobokova KN, Nigro LM, Ortman BD, Jennings RM, Sweetman CJ, 2010. DNA barcoding of Arctic Ocean holozooplankton for species identification and recognition. *Deep-Sea Res. Part II: Top. Stud. Oceanogr.*, 57(1): 40-48.

Cai RQ, 1979. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 16. Lepidoptera: Notodontidae. Science Press, Beijing. 11-12. [蔡荣权, 1979. 中国经济昆虫志. 第 16 册. 鳞翅目: 舟蛾科. 北京: 科学出版社. 11-12]

Caterino MS, Tishechkin AK, 2006. DNA identification and morphological description of the first confirmed lavae of Heteriinae (Coleopera: Histeridae). *Syst. Entomol.*, 31(3): 405-418.

CBOL Plant Working Group, 2009. A DNA barcode for land plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(31): 12794-12797.

Celorio-Mancera MdlP, Ahn S-J, Vogel H, Heckel DG, 2011. Transcriptional responses underlying the hormetic and detrimental effects of the plant secondary metabolite gossypol on the generalist herbivore *Helicoverpa armigera*. *BMC Genomics*, 12: 575.

Celorio-Mancera MdlP, Heckel DG, Vogel H, 2012. Transcriptional analysis of physiological pathways in a generalist herbivore: responses to different host plants and plant structures by the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Entomol. Exp. Appl.*, 144: 123-133.

Chase MW, Cowan RS, Hollingsworth PM, Den BC, Madrinan S, Peterson G, Seberg O, Jorgsensen T, Cameron KM, Carine M, Pederson N, Hedderson TAJ, Conrad F, Salazar GA, Richardson JE, Hollingsworth ML, Barraclough TG, Kelly L, Wilkinson M, 2007. A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. *Taxon*, 56: 295-299.

Chase MW, Salamin N, Wilkinson MHF, Dunwell JM, Kesanakurthi RP, Haidar N, Savolainen V, 2005. Land plants and DNA barcodes: short-term and long-term goals. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 360(1462): 1889-1895.

Chen R, Favret C, Jiang LY, Wang Z, Qiao GX, 2015. An aphid lineage maintains a bark-feeding niche while switching to and diversifying on conifers. *Cladistics*, 32(5): 555-572.

Chesters KIM, Gnauck FR, Hughes NF, 1967. Angiospermae. In: Harland WB, Holland CH, House MR, Hughes NF, Reynolds AB, Rudwick MJS, Satterthwaite GE, Tario LBH, Willey EC eds. The Fossil Record. Geological Society London, Burlington House, London. 269-288.

Chi MY, Han HL, Gao Q, Yang CH, Jin Q, Li J, Chen FQ, Wu CS, Zhang AB, 2012. Effects of different evolution models on DNA barcoding evaluated with the Notuidae from Wuling Mountain, Hebei, northern China. *Acta Entomologica Sinica*, 55(10): 1193-1204. [迟美妍, 韩辉林, 高强, 杨聪慧, 金倩, 李俊, 陈付强, 武春生, 张爱兵, 2012. 以雾灵山夜蛾科为材料评估进化模型对 DNA 条码分类的影响. 昆虫学报, 55(10): 1193-1204]

China Plant BOL Group, Li DZ, Gao LM, Li HT, Wang H, Ge XJ, Liu JQ, Chen ZD, Zhou SL, Chen SL, Yang JB, Fu CX, Zeng CX, Yan HF, Zhu ZD, SunYS, Chen SY, Zhao L, Wang K, Yang T, Duan GW, 2011. Comparative analysis of a large dataset indicates that internal transcribed spacer (ITS) should be incorporated into the core barcode for seed plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108(49): 19641-19646.

Cho S, Mitchell A, Mitter C, Regier J, Matthews M, Robertson R, 2008. Molecular phylogenetics of heliothine moths (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae), with comments on the evolution of host range and pest status. *Syst. Entomol.*, 33: 581-594.

Clarke JB, Sargent DJ, Bošković RI, Belaj A, Tobutt KR, 2009. A cherry map from the inter-specific cross *Prunus avium* 'Napoleon' ×*P. nipponica* based on microsatellite gene-specific and isoenzyme markers. *Tree Genet. Genomes*, 5: 41 – 51.

Colman DR, Toolson EC, Vesbach CDT, 2012. Do diet and taxonomy influence insect gut bacterial communities? *Mol. Ecol.*, 21: 5124 – 5137.

Colwell RK, 2013. Estimate: Statistical Estimation of Species Richness and Shared Species from Samples. Version 9. Available at purl. oclc. org/estimates.

Common IFB, 1975. Evolution and classification of the Lepidoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, 20: 183 – 203.

Corse E, Costedoat C, Chappaz R, Pesh N, Martin JF, Gilles A, 2010. A PCR-based method for diet analysis in freshwater organisms using 18S rDNA barcoding on faeces. *Mol. Ecol. Resour.*, 10: 96 – 108.

Dayrat B, 2005. Towards integrative taxonomy. *Biol. J. Linn. Soc.*, 85: 407 – 415.

Deagle BE, Chiaradia A, McInnes J, Jarman SN, 2010. Pyrosequencing faecal DNA to determine diet of little penguins: is what goes in what comes out? *Conserv. Genet.*, 11(5): 2039 – 2048.

Deagle BE, Eveson JP, Jarman SN, 2006. Quantification of damage in DNA recovered from highly degraded samples a case study on DNA in faeces. *Front. Zool.*, 3(1): 11.

Deagle BE, Kirkwood R, Jarman SN, 2009. Analysis of Australian fur seal diet by pyrosequencing prey DNA in faeces. *Mol. Ecol.*, 18(9): 2022 – 2038.

Deagle BE, Tollit DJ, Jarman SN, Hindell MA, Trites AW, Gales NG, 2005. Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions. *Mol. Ecol.*, 14(6): 1831 – 1842.

Ding B, Huang JS, Wu SD, Fang BZ, Liu QW, 2004. The bionomics and occurrence law of *Lasiognatha cellifera*. *Scientia Silvae Sinicae*, 40(6): 197 – 200. [丁珌，黄金水，吴寿德，方柏州，柳其文，2004. 桐花树毛颚小卷蛾生物学特性及发生规律. 林业科学，40(6): 197 – 200]

Dorman CF, Gruber B, Fruend J, 2008. Introducing the bipartite package: analysing ecological networks. *R News*, 8(2): 8 – 11.

Dove H, Mayes RW, 1996. Plant wax components: a new approach to estimating intake and diet composition in herbivores. *J. Nutr.*, 126(1): 13 – 26.

Ehrlich PR, Raven PH, 1964. Butterflies and plants: a study in coebolution. *Evolution*, 18: 586 – 608.

Ekrem T, Willassen E, Stur E, 2007. A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 43(2): 530 – 542.

Engel P, Moran NA, 2013. The gut microbiota of insects-diversity in structure and function. *FEMS Microbiol. Rev.*, 37(5): 699 – 735.

Fang CC, 1985. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 33. Lepidoptera: Arctiidae. Science Press, Beijing. 10. [方承莱，1985. 中国经济昆虫志. 第33册. 鳞翅目：灯蛾科. 北京：科学出版社. 10]

Fazekas AJ, Burgess KS, Kesanakurti PR, Graham SW, Newmaster SG, Husband BC, Percy DM, Hajibabaei M, Barrett SCH, 2008. Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. *PLoS ONE*, 3(7): e2802.

Ficetola GF, Taberlet P, Coissac E, 2016. How to limit false positives in environmental DNA and metabarcoding? *Mol. Ecol. Resour.*, 16: 604 – 607.

Fitt GP, 1989. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Annu. Rev. Entomol.*, 34: 17 – 52.

Foley WJ, McIlwee A, Lawler I Aragones, L, Woolnough AP, Berding N, 1998. Ecological applications of near infrared reflectance spectroscopy: a tool for rapid, cost-effective prediction of the composition of plant and animal tissues and aspects of animal performance. *Oecologia*, 116(3): 293 – 305.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome coxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 3: 294 – 299.

Fukatsu T, Hosokawa T, 2002. Capsule-transmitted gut symbiotic bacterium of the Japanese common plataspid stinkbug, *Megacopta punctatissima*. *Appl. Environ. Microb.*, 68: 389 – 396.

Gamba C, Hanghøj K, Gaunitz C, Alfarhan AH, Alquraishi SA, Al-Rashied KA, Bradley D, Orlando L, 2016. Comparing the performance of three ancient DNA extraction methods for high-throughput sequencing. *Mol. Ecol. Resour.*, 16(2): 459 – 469.

Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O, 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PHYML 3.0. *Syst. Biol.*, 59(3): 307 – 321.

Hajibabaei M, Janzen DH, Burns JM, Hallwachs W, Hebert PDN, 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(4): 968 – 971.

Harper GL, King RA, Dodd CS, Harwood JD, Glen DM, Bruford MW, Symondson WOC, 2005. Rapid screening of invertebrate predators for multiple prey DNA targets. *Mol. Ecol.*, 14: 819 – 827.

Harper GL, Sheppard SK, Harwood JD, Symondson WOC, 2006. Evaluation of temperature gradient gel electrophoresis for the analysis of prey DNA within the guts of invertebrate predators. *Bull. Entomol. Res.*, 96(3): 295 – 304.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, Dewaard FR, 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 270(1512): 313 – 321.

Hebert PDN, Ratnasingham S, Dewaard JR, 2003b. Barcoding animal life: cytochrome coxidase subunit I divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 270(Suppl.1): S96 – S99.

Hinton SE, 1943. The larvae of the Lepidoptera associated with stored products. *Bull. Entomol. Res.*, 34(3): 163 – 212.

Hirota T, Obara Y, 2000. Time allocation to the reproductive and feeding behaviors in the male cabbage butterfly. *Zool. Sci.*, 17(3): 323 – 327.

Hofreiter M, Poinar HN, Spaulding WG, Bauer K, Martin PS, Possneet G, Pääbo S, 2000. A molecular analysis of ground sloth diet

through the last glaciation. *Mol. Ecol.*, 9(12): 1975 – 1984.

Holechek JL, Vavra M, Pieper RD, 1982. Botanical composition determination of range herbivore diets: a review. *J. Range Manage.*, 35: 309 – 315.

Hollingsworth ML, Clark AA, Forrest LL, Richardson J, Pennington RT, Long DG, Cowan RC, Chase MW, Gaudeul M, Hollingsworth PM, 2009. Selecting barcoding loci for plants: evaluation of seven candidate loci with species-level sampling in three divergent groups of land plants. *Mol. Ecol. Resour.*, 9(2): 439 – 457.

Hollingsworth PM, 2008. DNA barcoding plants in biodiversity hot spots: progress and outstanding questions. *Heredity*, 101(1): 1 – 2.

Höss M, Kohn M, Pääbo S, Knauer F, Schröder W, 1992. Excrement analysis by PCR. *Nature*, 359(6392): 199.

Hou TQ, 1987. Pine Caterpillars in China. Science Press, Beijing. [候陶谦, 1987. 中国松毛虫. 北京: 科学出版社]

Hu M, Wang ZY, Li M, Xu Q, Jang ZQ, Zhang XG, 1999. The occurrence and injury of Lepidoptera insects on blackberry and its control. *Entomological Knowledge*, 36(6): 337 – 341. [胡淼, 王传永, 李明, 徐卿, 蒋祖钦, 张旭光, 1999. 黑莓鳞翅目害虫的发生为害习性与防治. 昆虫知识, 36(6): 337 – 341]

Hulcr J, Miller SE, Setliff GP, Darrow K, Mueller ND, Hebert PDN, Weiblen GD, 2007. DNA barcoding confirms polyphagy in a generalist moth, *Homona mermerodes* (Lepidoptera: Tortricidae). *Mol. Ecol. Notes*, 7: 549 – 557.

Ibanez S, Manneville O, Miquel C, Taberlet P, Valentini A, Aubert S, Coissac E, Colace MP, Duparc Q, Lavorel S, Moretti M, 2013. Plant functional traits reveal the relative contribution of habitat and food preferences to the diet of grasshoppers. *Oecologia*, 173(4): 1459 – 1470.

Issiki S, 1977. Early Stages of Japanese Moths in Colour, Vol. I. Hoikusha Publishing, Osaka. 5 – 35.

Janzen DH, 1984. Two ways to be a tropical big moth: Santa Rosa saturniids and sphingids. *Oxford Survey in Evolutionary Biology*, 1: 85 – 140.

Janzen DH, 1987. Insect diversity of a Costa Rican dry forest: why keep it, and how? *Bot. J. Linn. Soc.*, 30: 343 – 356.

Janzen DH, Hafibabaei M, Burns JM, Hallwachs W, Remigio E, Hebert PDN, 2005. Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 360(1462): 1835 – 1845.

Jin Q, Zhang AB, 2013. Distance-based DNA barcoding methods for insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(1): 283 – 287. [金倩, 张爱兵, 2013. 昆虫 DNA 条形码分析中的距离方法. 应用昆虫学报, 50(1): 283 – 287]

Juen A, Traugott M, 2005. Detecting predation and scavenging by DNA gut-content analysis: a case study using a soil insect predator-prey system. *Oecologia*, 142(3): 344 – 352.

Jurado-Rivera JA, Vogler AP, Reid CAM, Petitpierre E, Gomez-Zurita J, 2009. DNA barcoding insect-host plant associations. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.*, 276: 639 – 648.

Kaartinen R, Stone GN, Hearn J, Lohse K, Roslin T, 2010. Revealing secret liaisons: DNA barcoding changes our understanding of food webs. *Ecol. Entomol.*, 35(5): 623 – 638.

Kajtoch Ł, Kubisz D, Heise W, Mazur M A, Babik W, 2015. Plant-herbivorous beetle networks: molecular characterization of trophic ecology within a threatened steppic environment. *Mol. Ecol.*, 24(15): 4023 – 4038.

Kartzinel TR, Chen PA, Coverdale TC, Erickson DL, Kress WJ, Kuzmina ML, Rubenstein DI, Wang W, Pringle RM, 2015. DNA metabarcoding illuminates dietary niche partitioning by African large herbivores. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112(26): 8019 – 8024.

Katoh K, Standley DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7 improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.*, 30(4): 772 – 780.

Kikuchi Y, Hayatsu M, Hosokawa T, Nagayama A, Tago K, Fukatsu T, 2012. Symbiont-mediated insecticide resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109: 8618 – 8622.

King RA, Moreno-Ripoll R, Agusti N, Shayler SP, Bell JR, Bohan DA, Symondson WOC, 2010a. Multiplex reactions for the molecular detection of predation on pest and nonpest invertebrates in agroecosystems. *Mol. Ecol. Resour.*, 11(2): 270 – 373.

King RA, Vaughan IP, Bell JR, Bohan DA, Symondson WOC, 2010b. Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species and lineage-specific PCR primers. *Mol. Ecol.*, 19(8): 1721 – 1732.

Kitson JJN, Warren BH, Florens FBV, Baider C, Strasberg D, Emerson BC, 2013. Molecular characterization of trophic ecology within an island radiation of insect herbivores (Curculionidae: Entiminae: *Cratopus*). *Mol. Ecol.*, 22: 5441 – 5455.

Kress WJ, Erickson DL, 2007. A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding *rbcL* gene complements the non-coding *trnH-psbA* spacer region. *PLoS ONE*, 2(6): e508.

Kress WJ, Erickson DL, Jones FA, Swenson NG, 2009. Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106(44): 18621 – 18626.

Kress WJ, Wurdack KJ, Zimmer EA, Weigt LA, Janzen DH, 2005. Use of DNA barcodes to identify flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102(23): 8369 – 8374.

Lahaye R, Der Bank MV, Bogarin D, Warner J, Franco P, Gigot G, Maurin O, Duthoit S, Barraclough TG, Savolainen V, 2008. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(8): 2923 – 2928.

Li YL, Tong Y, Xing FW, 2016. DNA barcoding evaluation and its taxonomic implications in the recently evolved genus *Oberonia* Lindl. (Orchidaceae) in China. *Front. Plant Sci.*, DOI: 10.3389/fpls.2016.01791.

Lindroth RL, Anson BD, Weisbrod AV, 1990. Effects of dietary protein and juglone on the gypsy moths: growth performance and detoxification enzyme activity. *J. Chem. Ecol.*, 16(8): 2533 – 2542.

Liu SR, 2011. Preliminary Study of the Lepidopteran Larval Diversity in Tianjin Mt. Baxian. MSc Thesis, Nankai University, Tianjin. [刘淑蓉, 2011. 天津八仙山鳞翅目幼虫多样性初步研究. 天津:

南开大学硕士学位论文]

Liu YQ, Bai JW, 1977. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 11. Lepidoptera: Tortricidae (I). Science Press, Beijing. 2 – 3. [刘友樵，白九维，1977. 中国经济昆虫志. 第 11 册. 鳞翅目：卷蛾科(一). 北京：科学出版社. 2 – 3]

Liu YQ, Wu CS, 2006. Fauna Sinica. Insecta Vol. 47. Lepidoptera: Lasiocampidae. Science Press, Beijing. 16 – 21. [刘友樵，武春生，2006. 中国动物志. 昆虫纲. 第 47 卷. 鳞翅目：枯叶蛾科. 北京：科学出版社. 16 – 21]

MacKay MR, 1970. Lepidoptera in Cretaceous amber. *Science*, 167: 379 – 380.

Mason KL, Stepien TA, Blum JE, Holt JF, Labbe NH, Rush JS, Raffa KF, Handelsman J, 2011. From commensal to pathogen: translocation of *Enterococcus faecalis* from the midgut to the hemocoel of *Manduca sexta*. *mBio*, 2(3): e00065-11.

Matheson CD, Muller GC, Junnila A, Bernon K, Hausmann A, Miller MA, Greenblatt CG, Schlein Y, 2008. A PCR method for detection of plant meals from the guts of insects. *Org. Divers. Evol.*, 7 (2008): 294 – 303.

Mayer MS, 1973. Attraction studies of male *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae) with new combination of olfactometer and pheromone dispenser. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 66: 119 – 196.

Meekan MG, Jarman SN, McLean C, Schultz MB, 2009. DNA evidence of whale sharks (*Rhincodon typus*) feeding on red crab (*Gecarcoidea natalis*) larvae at Christmas Island, Australia. *Mar. Freshwater Res.*, 60(6): 607 – 609.

Mitter C, Poole AR, Matthews M, 1993. Biosystematics of the Heliothinae (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Rev. Entomol.*, 38: 207 – 225.

Moszczynska A, Locke S, McLaughlin JD, Marcogliese D, Crease T, 2009. Development of primers for the mitochondrial cytochrome c oxidase I gene in digenetic trematodes (Platyhelminthes) illustrates the challenge of barcoding parasitic helminths. *Mol. Ecol. Resour.*, 9(S1): 75 – 82.

Newmaster SG, Fazekas AJ, Steeves R, Janovec JP, 2008. Testing candidate plant barcode regions in the Myristicaceae. *Mol. Ecol. Resour.*, 8(3): 480 – 490.

Ng D, 1988. A novel level of interactions in plant-insect systems. *Nature*, 334(18): 611 – 633.

Nitao JK, 1989. Enzymatic adaptation in a specialist herbivore for feeding on furanocoumarin-containg plants. *Ecology*, 70 (3): 629 – 635.

Nylander JAA, 2004. MrModeltest v2. Program Distributed by the Author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, Sweden.

Opler PA, 1973. Fossil lepidopterous leaf mines demonstrate the age of some insect-plant relationships. *Science*, 179: 1321 – 1323.

Otte D, Joern A, 1976. On feeding patterns in desert grasshoppers and the evolution of specialized diets. *Proc. Acad. Nat. Sci. Phila.*, 128: 89 – 126.

Passmore AJ, Jarman SN, Swadling KM, Kawaguchi S, McMinn A, Nicol S, 2006. DNA as a dietary biomarker in Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Mar. Biotechnol.*, 8(6): 686 – 696.

Ping L, Büchler R, Mithüfer A, Svatos A, Spiteller D, Dettner K, Gmeiner S, Piel J, Schlott B, Boland W, 2007. A novel Dps-type protein from insect gut bacteria catalyses hydrolysis and synthesis of N-acyl amino acids. *Environ. Microbiol.*, 9: 1572 – 1583.

Pinźon-Navarro SP, Jurado-Rivera JA, Gomez-Zurita J, Lyal CHC, Vogler AP, 2010. DNA profiling of host herbivore interactions in tropical forests. *Ecol. Entomol.*, 35(S1): 18 – 32.

Pompanon F, Bonin A, Bellemain E, Taberlet P, 2005. Genotyping errors: causes, consequences and solutions. *Nat. Rev. Genet.*, 6 (11): 847 – 859.

Pompanon F, Deagle BE, Symondson WOC, Brown DS, Jarman SN, Taberlet P, 2012. Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. *Mol. Ecol.*, 21: 1931 – 1950.

Powell JA, 1980. Evolution of larval food preferences in Microlepidoptera. *Ann. Rev. Entomol.*, 25: 133 – 159.

Powell JA, Mitter C, Farrell B, 1998. Evolution of larval food preferences in Lepidoptera. In: Kristensen N ed. Handbook of Zoology. Evolution Systematic and Biogeography. De Gruyter, New York. 403 – 422.

Qin J, Zhang AB, 2013. Commonly used methods for phylogenetic reconstruction of insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50 (1): 288 – 292. [秦洁，张爱兵，2013. 昆虫系统发育重建的常用方法及步骤. 应用昆虫学报，50(1): 288 – 292]

Qin J, Zhang YZ, Zhou X, Kong XB, Wei SJ, Ward RD, Zhang AB, 2015. Mitochondrial phylogenomics and genetic relationships of closely related pine moth (Lasiocampidae: *Dendrolimus*) species in China, using whole mitochondrial genomes. *BMC Genomics*, 16: 428.

Quince C, Lanzen A, Davenport RJ, Turnbaugh P, 2011. Removing noise from pyrosequenced amplicons. *BMC Bioinformatics*, 12 (1): e38.

R Core Development Team, 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

Rambaut A, 2009. Tree Figure Drawing Tool. (http://tree.bio.ed.ac.uk/).

Ratnasingham S, Hebert PDN, 2007. BOLD: the barcode of life data system (www.barcodinglife.org). *Mol. Ecol. Notes*, 7(3): 355 – 364.

Read DS, Sheppard SK, Bruford MW, Glen DM, Symondson WOC, 2006. Molecular detection of predation by soil microarthropods on nematodes. *Mol. Ecol.*, 15(7): 1963 – 1972.

Reilly CC, Gentry CR, McVay JR, 1987. Biochemical evidence for resistance of rootstocks to the peach tree borer and species separation of peachtree borer and lesser peach tree borer (Lepidoptera: Sesiidae) on peach trees. *J. Econ. Entomol.*, 80: 338 – 344.

Rentz DCE, 1991. Orthoptera (grasshoppers, locusts, katydids, crickets). In: Division of Entomology of CSIRO in Australia ed. The Insects of Australia. 2nd ed. Melborne University Press, Melbourne, Australia. 369 – 393.

Robert F, Benrey B, 1997. Aggregation facilitates larval growth in the neotropical nymphalid butterfly *Chlosyne janais*. *Ecol. Entomol.*, 22

(2): 133 – 141.

Robledo CG, Erickson DL, Staines CL, Erwin TL, Kress WJ, 2013. Tropical plant-herbivore networks: reconstructing species interactions using DNA barcodes. *PLoS ONE*, 8(1): e52967.

Sattler K, 1967. Ethmiidae. In: Amsel HG, Gregor G, Reisser H eds. Microlepidaptera Palearctica Volume 2. Verlag Georg Fromme & Co, Vienna. 185 pp.

Schindel DE, Miller SE, 2005. DNA barcoding a useful tool for taxonomists. *Nature*, 435: 17.

Schnell IB, Bohmann K, Gilbert MT, 2015. Tag jumps illuminated-reducing sequence-to-sample misidentifications in metabarcoding studies. *Mol. Ecol. Resour.*, 15: 1289 – 1303.

Scoble MJ, 1992. The Lepidoptera: Form, Function and Divesity. Oxford University Press, Oxford. xi + 404 pp.

Shendure J, Ji H, 2008. Next-generation DNA sequencing. *Nat. Biotechnol.*, 26(10): 1035 – 1045.

Smiley JT, 1985. Are chemical barriers necessary for evolution of butterfly-plant associations? *Oecologia*, 65: 580 – 583.

Smith MA, Ebeleigh ES, McCann KS, Merilo MT, Mccarthy PC, Van Rooyen KI, 2011. Barcoding a quantified food web: crypsis, concepts, ecology and hypotheses. *PLoS ONE*, 6(7): e14424.

Soininen EM, Valentini A, Coissac E, Miquel C, Gielly L, Brochmann C, Brysing A, Sønstebø JH, Lms RA, Yoccoz NG, Taberlet P, 2009. Analysing diet of small herbivores: the efficiency of DNA barcoding coupled with high-throughput pyrosequencing for deciphering the composition of complex plant mixtures. *Front. Zool.*, 6(1): 16.

Song SB, Shi ZY, Jin Q, Han HL, Liu XF, Hao MD, Zhang AB, 2014a. Species identification of Noctuidae moths (Insecta: Lepidoptera) from Baoding and Langfang, Hebei, China with DNA barcoding and establishment of a local DNA barcoding library. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(1): 156 – 168. [宋韶彬, 石志勇, 金倩, 韩辉林, 刘晓枫, 郝梦迪, 张爱兵, 2014a. DNA 条形码技术在河北保定、廊坊地区鳞翅目昆虫上的应用及小型区域数据库的构建. 应用昆虫学报, 51(1): 156 – 168]

Song SB, Yang CH, Zhang AB, 2014b. Biological control of pine moths. *Bulletin of Biology*, 49(5): 1 – 3. [宋韶彬, 杨聪慧, 张爱兵, 2014b. 松毛虫的生物防治. 生物学通报, 49(5): 1 – 3]

Staudacher K, Wallinger C, Schallhart N, Traugott M, 2011. Detecting ingested plant DNA in soil-living insect larvae. *Soil Biol. Biochem.*, 43: 346 – 350.

Stech M, Kolvoort E, Loonen MJJE, Vrieling K, Kruijer JD, 2010. Bryophyte DNA sequences from faeces of an arctic herbivore, barnacle goose (*Branta leucopsis*). *Mol. Ecol. Resour.*, 11(2): 404 – 408.

Sunderland KD, Powell W, Symondson WOC, 2005. Populations and communities. In: Jervis MA ed. Insects as Natural Enemies: A Practical Perspective. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 299 – 434.

Swofford DL, 2002. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. 0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Szentesi A, Aughlin M, Coffelt JA, 1977. Alterations in premating behavior and Pheromone biology of gamma-irradiated *Trichoplusla ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *Entomol. Exp. Appl.*, 22(1): 1 – 12.

Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Miquel C, Valentini A, Vermat T, Certhier G, Brochmann C, Willerslev E, 2007. Power and limitations of the chloroplast trn L (UAA) intron for plant DNA barcoding. *Nucleic Acids Res.*, 35(3): e14.

Tao WQ, Pan YP, Liu H, Yan GZ, Wang JL, 2009. Insect fauna of Lepidoptera national nature reserve of Bejing. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 37(6): 2592 – 2595. [陶万强, 潘彦平, 刘寰, 闫国增, 王金利, 2009. 北京松山国家自然保护区鳞翅目昆虫区系分析. 安徽农业科学, 37(6): 2592 – 2595]

Thompson JN, Pellmyr O, 1991. Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Ann. Rev. Entomol.*, 36: 65 – 89.

Tomás AAP, Sittenfeld A, Lorío LU, Chavarría F, Mora M, Janzen DH, Goodman RM, Simon HM, 2011. Comparison of midgut bacterial diversity in tropical caterpillars (Lepidoptera: Saturniidae) fed on different diets. *Environ. Entomol.*, 40(5): 1111 – 1122.

Valdez Moreno M, Ivanova NV, Elias Gutiérrez M, Contreras Balderas S, Hebert PDN, 2009. Probing diversity in freshwater fishes from Mexico and Guatemala with DNA barcodes. *J. Fish Biol.*, 74(2): 377 – 402.

Valentini A, Miquel C, Nawaz MA, Bellemain E, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Cruaud C, Nascetti G, Wincker P, Swenson J, Taberlet P, 2009a. New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. *Mol. Ecol. Resour.*, 9(1): 51 – 60.

Valentini A, Pompanon F, Taberlet P, 2009b. DNA barcoding for ecologists. *Trends Ecol. Evol.*, 24(2): 110 – 117.

Wang HS, Wahlberg N, Holloway JD, Bergsten J, Fan XL, Janzen DH, Hallwachs W, Wen LJ, Wang M, Sören N, 2015. Molecular phylogeny of Lymantriinae (Lepidoptera, Noctuoidea, Erebidae) inferred from eight gene regions. *Cladistics*, 31(6): 579 – 592.

Wang PY, 1980. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 21. Lepidoptera. Pyralidae. Science Press, Beijing. 1 – 2. [王平远, 1980. 中国经济昆虫志. 第 21 册. 鳞翅目: 螟蛾科. 北京: 科学出版社. 1 – 2]

Woese CR, 1996. Phylogenetic trees: whither microbiology? *Curr. Biol.*, 6(9): 1060 – 1063.

Wong E, Hanner R, 2008. DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Res. Int.*, 41(8): 828 – 837.

Wu CS, 2010. Analysis on the host plant diversity of slug caterpillar moths in China. *Forest Pest and Disease in China*, 29(2): 1 – 4. [武春生, 2010. 中国刺蛾科幼虫的寄主植物多样性分析. 中国森林病虫, 29(2): 1 – 4]

Wu SD, Fang BZ, Huang JS, Ding B, Liu QW, Wu QC, 2002. The study of bio-control technology of Pyralidae pests of mangrove. *Wuyi Science Journal*, 18: 116 – 119. [吴寿德, 方柏州, 黄金水, 丁珌, 柳其文, 吴秋城, 2002. 红树林害虫——螟蛾生物防治技术的研究. 武夷科学, 18: 116 – 119]

Wu ZQ, 1983. Identification of the corpse of Lepidoptera larvae in sweet potato field. *Journal of Fujian Agricultural College*, 12(2): 153 –

156.［吴珍泉，1983. 甘薯田被寄生鳞翅目幼虫尸体种类识别. 福建农学院学报，12(2)：153 – 156］

Xue DY，Zhu HF，1999. Fauna Sinica. Insecta Vol. 15. Lepidoptera：Geometridae，Larentiinae. Science Press，Beijing. 34 – 44.［薛大勇，朱弘复，1999. 中国动物志. 昆虫纲，第 15 卷. 鳞翅目：尺蛾科，花尺蛾亚科. 北京：科学出版社. 34 – 44］

Yamaguchi A，Kawamura H，Horiguchi T，2006. A further phylogenetic study of the heterotrophic dinoflagellate genus，*Protoperidinium* (Dinophyceae) based on small and large subunit ribosomal RNA gene sequences. *Phycol. Res.*，54(4)：317 – 329.

Yang CH，Han HL，Chi MY，Jin Q，Wu CS，Zhu CD，Zhang AB，2012. Species identification of Noctuidae moths (Insecta：Lepidoptera) from Baihuashan，Beijing，China with DNA barcoding. *Acta Entomologica Sinica*，55(9)：1082 – 1092.［杨聪慧，韩辉林，迟美妍，金倩，武春生，朱朝东，张爱兵，2012. DNA 条形码技术在北京百花山地区夜蛾科物种鉴定中的应用. 昆虫学报，55(9)：1082 – 1092］

Yang F，Huang LH，Zhang AB，2014. Hing-throughput transcriptome sequencing technology and its application in Lepidoptera. *Acta Entomologica Sinica*，57(8)：991 – 1000.［杨帆，黄立华，张爱兵，2014. 高通量转录组测序技术及其在鳞翅目昆虫上的应用. 昆虫学报，57(8)：991 – 1000］

Yang F，Lei GC，Zhang AB，2011. DNA barcoding and its utility in species conservation. *Biotechnology Bulletin*，5：58 – 63.［杨帆，雷光春，张爱兵，2011. DNA 条形码技术及其在保护生物学中的应用. 生物技术通报，5：58 – 63］

Yang F，Shi ZY，Bai SL，Ward† RD，Zhang AB，2014. Comparative studies on species identification of Noctuoidea moths in two nature reserve conservation zones (Beijing，China) using DNA barcodes and thin- film biosensor chips. *Mol. Ecol. Resour.*，14：50 – 59.

Yang Z，Rannala B，2012. Molecular phylogenetics：principles and practice. *Nature Rev. Genet.*，13：303 – 314.

Yue QY，Qiu DY，Huang YW，Liu GX，2011. Application of DNA barcoding to species identification of an unknown insect larva. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*，21(3)：615 – 617.［岳巧云，邱德义，黄艺文，刘国雄，2011. DNA 条形码技术在未知昆虫幼虫种类鉴定中的应用. 中国卫生检验杂志，21(3)：615 – 617］

Zagrobelny M，Scheibye-Alsing K，Jensen NB，meller BL，Gorodkin J，Bak S，2009. 454 pyrosequening based transcriptome analysis of *Zygaena filipendulae* with focus on genes involved in biosynthesis of cyanogenic glucosides. *BMC Genomics*，10(1)：574.

Zalucki MP，Murray DAH，Gregg PC，Fitt GP，Twine PH，Jones C，1994. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* (Wallengren) in the inland of Australia：larval sampling and host plant relationships during winter and spring. *Aust. J. Zool.*，42：329 – 346.

Zhang AB，Hao MD，Yang CQ，Shi ZY，2016. BarcodingR：an integrated R package for species identification using DNA barcodes. *Methods Ecol. Evol.*，doi：10.1111/2041-210X.12682.

Zhang L，1995. The species of hawkmoth，host plants and control in Beijing. *Journal of Beijing Normal University* (*Natural Science*)，31(4)：509 – 512.［张立，1995. 北京地区天蛾的种类、寄主植物及防治. 北京师范大学学报(自然科学版)，31(4)：509 – 512］

Zhang YL，Wu SA，Guo WX，Chen HZ，2008. Research progress on biological control of fall webworm (*Hyphantria cunea* Drury) in China. *Hebei Journal of Forsetry and Orchard Research*，23(1)：70 – 77.［张彦龙，武三安，郭文霞，陈合志，2008. 中国美国白蛾生物防治研究进展. 河北林果研究，23(1)：70 – 77］

Zhao ZL，1978. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 12. Lepidoptera：Lymantridae. Science Press，Beijing. 7 – 9.［赵仲苓，1978. 中国经济昆虫志. 第 12 册. 鳞翅目：毒蛾科. 北京：科学出版社. 7 – 9］

Zhou J，Davey ME，Figueras JB，Rivkina E，Gilichinsky D，Tiedje JM，1997. Phylogenetic diversity of a bacterial community determined from Siberian tundra soil DNA. *Microbiology*，143(12)：3913 – 3919.

Zhu HF，Chen YX，1963. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 3. Lepidoptera：Noctuidae (I). Science Press，Beijing. 6.［朱弘复，陈一心，1963. 中国经济昆虫志. 第 3 册. 鳞翅目：夜蛾科(一). 北京：科学出版社. 6］

Zhu HF，Liu YQ，1951. A classification of the sphingid larvae of Peking. *Acta Entomologica Sinica*，6：419 – 450.［朱弘復，刘友樵，1951. 北京天蛾科幼虫及蛹分类. 昆虫学报，6：419 – 450］

Zhu HF，Wang LY，1980. Economic Insect Fauna of China. Fasc. 22. Lepidoptera：Sphingidae. Science Press，Beijing. 10 – 15.［朱弘复，王琳瑶，1980. 中国经济昆虫志. 第 22 册. 鳞翅目：天蛾科. 北京：科学出版社. 10 – 15］

(责任编辑：赵利辉)